

## Metanalisi di cistatina vs creatinina. quali marcatori della filtrazione glomerulare renale.

**Paolo Mastandrea**

*Laboratorio Analisi Cliniche - Azienda Ospedaliera "G. Moscati", Avellino*

**Riassunto. Obiettivo:** Lo scopo di questa metanalisi è di confrontare cistatina e creatinina quali marcatori di filtrazione glomerulare, nonché il grado di concordanza della letteratura sull'argomento. **Metodi:** la fonte bibliografica è stata Medline (1985-1997). Gli studi sperimentali selezionati sono stati quattro. Il metodo di riferimento in essi utilizzato è la clearance renale di un marcatore esogeno.

Nella metanalisi sono stati presi in considerazione: sensibilità, specificità, accuratezza, precisione, grado di correlazione con il metodo di riferimento, relativamente agli studi esaminati. È stato altresì assegnato un punteggio di qualità ad ognuno degli Studi.

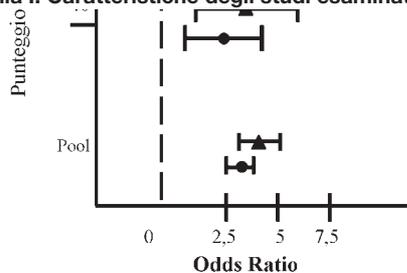
Per la verifica del grado di omogeneità tra studi, relativamente ai parametri su citati, è stato utilizzato il metodo di Mantel - Haenszel. Infine con il test  $\chi^2$  per dati appaiati, effettuato sulle tabelle di contingenza, è stata valutata la significatività della differenza di sensibilità tra i due marcatori per ognuno degli studi. **Risultati:** l'omogeneità tra studi, relativamente alla cistatina e al metodo PETIA (Particle-enhanced turbidimetric immuno-assay) è mancata solo relativamente alla precisione tra serie analitiche. La differenza di sensibilità/specificità tra i due marcatori è risultata significativa ( $p < 0.001$ ). Il punteggio di qualità è risultato maggiore negli studi che hanno utilizzato il metodo PETIA in automazione.

### Introduzione

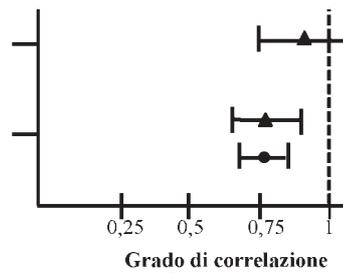
Al momento di decidere se adottare un nuovo metodo di laboratorio si ritiene opportuno effettuare una

metanalisi che valuti il grado di concordanza degli Autori sulle caratteristiche del nuovo metodo (accuratezza, precisione, sensibilità, specificità, grado di correlazione con il metodo di riferimento).

**Tabella I. Caratteristiche degli studi esaminati**



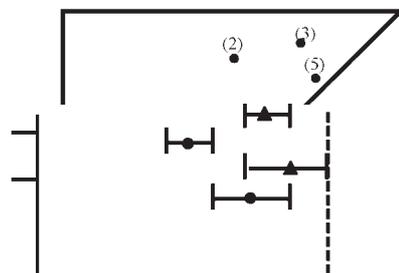
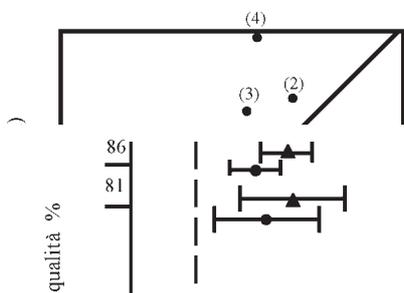
Test di omogeneità:  $\chi^2 = 0,0123$  cistat. (N.S.)  
 $\chi^2 = 0,146$  creat. (N.S.)



Test di omogeneità:  $\chi^2 = 2,98$  cistat. (N.S.)  
 $\chi^2 = 9,49$  (0,05 > p > 0,001) creat.

**A<sub>2</sub>**

**B<sub>2</sub>**



Corrispondenza a: P. Mastandrea

Laboratorio Analisi Cliniche - Azienda Ospedaliera "G. Moscati"

Viale Italia, 83100 Avellino - tel. 089 898310 - e-mail: mastap@tin.it

**Tabella II. Caratteristiche analitiche dei marcatori**

E: Coefficienti di variazione entro serie analitiche  
 T: Coefficiente di variazione tra serie analitiche  
 M: Malati  
 S: Sani  
 m: Media  
 N: Dimensioni del campione nell'esperimento

N.R.: Non riportato  
 MR: Metodo di riferimento  
 DS: Deviazione standard  
 CV: Coefficiente di variazione

Studio N°	Dimensioni del campione	Età	Accuratezza (cistatina)	Precisione (C.V.) cistatina E/T	Sensibilità/Specificità		Correlazione con MR % (intervalli di Confidenza)	
					Cistatina	Creatinina	Cistatina	Creatinina
(2)	206 (64/122)	N.R.	93% ± 3 (N = 10)	1,86 ± 0,69/4,07 ± 0,31 (3 sieri, 20 repliche, 20 giorni)	71/95	52/99 (N = 206)	81 (73-89)	50 (38/62) (N = 206)
(3)	51 (24/27)	8-81	98% ± 3 (N = 15)	0,912 ± 0,5/2,15 ± 0,77 (5 sieri, 5 repliche, 6 giorni)	70/100	50/100 (N = 51)	87 (73-100)	71 (51/91) (N = 51)
(4)	97 (15/82)	18-73	98,6% ± 2,7 (N = 21)	4,1 ± 0,9/ N.R. (3 sieri, 11 repliche)	88/86	53/100 (N = 31)	81 (62-88)	N.R. (N = 31)
(5)	135 (114/21)	7-77 (n= 42)	N.R.	N.R.	N.R.		75 (62-88)	75 (64-86) (N = 135)

La cistatina (Ci) è una microproteina i cui livelli sierici non aumentano con l'infiammazione. Viene filtrata dai glomeruli renali ma non riassorbita dai tubuli, differentemente dalla creatinina (Cr) che viene filtrata e riassorbita.

Altro vantaggio rispetto alla creatinina sembra essere che la cistatina non è influenzata dal peso corporeo, dalla massa muscolare e dal sesso. Infine la maggior sensibilità del marcatore renderebbe più spesso superfluo il ricorso alla clearance (1).

Scopo di questa metanalisi è valutare, dal punto di vista delle caratteristiche analitiche, il grado di concordanza della letteratura sul fatto che la cistatina sia un marcatore della frazione di filtrazione glomerulare (GFR) più affidabile della creatina.

## Metodi

### Scelta e valutazione degli studi sperimentali:

La ricerca bibliografica è stata fatta su Medline per il periodo 1985 - 1997. Sono state utilizzate le parole-chiave: "cistatina e creatinina", "cistatina e GFR". Sono stati presi in considerazione solo gli studi che avessero per metodo di riferimento la clearance di un marcatore esogeno (Tab. I) (2) (3) (4) (5).

Le caratteristiche dei marcatori prese in considerazione so-no riportate nella Tab. 2. La sensibilità del metodo è quella relativa al punto superiore di "cut-off", ottimale secondo l'indice di Youden.

Non sono stati presi in considerazione: 1) gli studi che non confrontano Ci con Cr come marcatori di GFR; 2) relazioni di tipo non sperimentale; 3) altri marcatori considerati.

Sono state passate in rassegna le caratteristiche salienti dell'esperimento per ognuno degli studi considerati (Tab. I). Utilizzando la letteratura esistente sull'argomento (6) (7) (8) sono stati stabiliti gli specifici criteri per un punteggio di qualità, al fine di attribuire un peso al contributo di ciascuno studio considerato nella valutazione dei marcatori ( Tab. III e IV).

### Metodi statistici:

La valutazione di sensibilità/specifità dei marcatori è stata effettuata sulle rispettive tabelle di contin-

genza (tab. V-A) con due metodi:

1) il test di omogeneità per l'"Odds Ratio" (O.R):

$$\frac{\text{veri positivi} \times \text{veri negativi}}{\text{falsi positivi} \times \text{falsi negativi}} \quad (1)$$

Il suddetto test di omogeneità è quello di Mantel-Haenzel per misure di frequenze così come è riportato da Petitti (9). Esso concorda altresì con i metodi definiti da A. Albert (10). Gli aspetti statistici più generali sono riportati da Whitehead (12) e Marubuni (11);

2) il test  $\chi^2$  per dati appaiati relativo, per ogni studio, a ciascun marcatore (Tab. V - B) e alla differenza tra i due marcatori (Tab. V - C) (10).

Il test di omogeneità tra studi per misure in scala continua, secondo Mantel - Haenzel, è stato altresì utilizzato per la valutazione, per ognuno dei marcatori, del suo grado di correlazione con il metodo di riferimento. Lo stesso test statistico è stato usato per la valutazione dell'accuratezza e della precisione del marcatore cistatina. La precisione è stata valutata in termini di coefficiente di variazione (C.V.) (Tab. II).

La differenza tra Ci e Cr nel loro grado di concordanza con il metodo di riferimento, (M.R.) si esprime in modo sintetico nel diagramma di L'Abbè (fig. 1 - B<sup>2</sup>). Allo stesso modo è espressa la differenza nel numero dei veri positivi (Fig. 1 - A<sup>2</sup>).

N=489 è la dimensione del campione complessivo. La dimensione campionaria di ciascuno degli esperimenti considerati (Tab. II) è risultata soddisfacente sia per valutare la significatività delle differenze tra gli Odds Ratio [1], sia per effettuare i test  $\chi^2$  per dati appaiati (Tab. V - C) (13).

## Risultati

Il test di eterogeneità tra studi di Mantel - Haenzel, applicato agli O.R. [1], risulta negativo per ciascuno dei marcatori ( $\chi^2$  Ci = 0.012, 3 g. l.;  $\chi^2$  Cr = 0.146, 3 g. l.)

La Fig. 1-A<sup>1</sup> rappresenta i logaritmi naturali dell'Odds Ratio [1] con i relativi intervalli di confidenza (I.C.) per ogni esperimento.

Tab. III – Elementi costitutivi della qualità degli studi

<b>1. Età dei pazienti:</b>
(6) la popolazione è divisa in gruppi di età;
(3) sono indicati sia l'età media e/o mediana che quella massima e minima;
(1) sono indicate l'età massima e minima;
(0) non ci sono indicazioni.
<b>2. Definizione della malattia:</b>
(6) è descritto il protocollo relativo al test di riferimento;
(1) il test di riferimento è solo citato.
<b>3. Dimensione dei campioni negli esperimenti:</b>
(9) la dimensione campionaria è sufficiente per a: il test $\chi^2$ per l'O.R. [1], b) il test di Student per la differenza tra i gradi di correlazione con il metodo di riferimento;
(5) si verifica una sola delle condizioni di cui al (9);
(0) non si verifica nessuna delle condizioni.
<b>4. Prova di sensibilità e specificità dei marcatori:</b>
(9) effettuata su tutta la curva ROC;
(6) effettuata al cut-off di massima efficienza del test;
(0) non effettuata.
<b>5. Grado di correlazione con il metodo di riferimento:</b>
(6) saggiato per entrambi i marcatori;
(3) saggiato solo per la cistatina.
<b>6. Precisione:</b>
(6) saggiata entro e tra la serie analitiche;
(3) saggiata solo entro serie;
(0) non saggiata.
<b>7. Accuratezza:</b>
(6) saggiata;
(0) non saggiata.
<b>8. Interferenze:</b>
(9) saggiate (per RF, Bil, Tg, EDTA)
(0) non saggiate.
<b>9. Stabilità dei sieri:</b>
(6) saggiata la conservazione: a) a 4°C con e senza separazione del siero per 1 giorno; b) per 1 ora a -20°C con e senza separazione dei sieri; c) per alcuni giorni a -40°C.
(3) uno dei precedenti;
(0) nessuno dei precedenti.

Tab. IV – Punteggi Tab. III

Studi	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Tot.	%Max
(2)	0	6	9	6	6	6	6	9	6	54	86
(3)	1	6	5	6	6	6	6	9	6	51	81
(4)	1	1	5	6	3	3	6	0	0	25	40
(5)	3	1	0	0	6	0	0	0	0	10	16

Essendo  $> 0$  sia la media che i limiti dell'I.C., sensibilità e specificità di entrambi i marcatori sono da ritenersi accettabili (9) (10).

Anche la differenza tra gli O.R. [1] "pooled" dei due marcatori, valutata con il test di Mantel Haenszel per l'omogeneità (9), è molto significativa ( $\chi^2 = 6.1$ ;  $p < 0.02$ , 1 g. l.). La significatività di tale differenza è confermata dal test  $\chi^2$  per dati appaiati (Tab. V).

Va ora rilevato che nel test  $\chi^2$  per dati appaiati sono i falsi positivi ed i falsi negativi ad essere presi in considerazione. Quindi il marcatore cistatina denuncia una dimensione campionaria insufficiente nello studio (5) (Tab. V - B) a differenza della creatinina, per la più bassa frequenza delle sue risposte false.

Relativamente alla valutazione di precisione, quella entro serie analitiche risulta omogenea soltanto per gli Studi (2) e (3) ( $\chi^2$  2,7, 1 g. l.), mentre l'inclusione dello Studio (4) introduce eterogeneità ( $\chi^2 = 9.8$ ;  $p < 0.01$ , 2 g. l.). Ciò è spiegabile con la diversità dei metodi immunochimici (Tab. I).

Invece la differenza di precisione tra serie analitiche risulta significativa anche per gli Studi (1) e (2) ( $\chi^2 = 5,38$ ;  $p < 0.05$ ) (Tab. II).

Gli studi risultano tutti omogenei per l'accuratezza ( $\chi^2 = 0.04$ , g. l. = 2) (Tab. II).

Il grado di correlazione con il metodo di riferimento risulta omogeneo tra tutti gli Studi soltanto per la cistatina ( $\chi^2 = 2.98$ , 3 g. l.). Per la creatinina l'omogeneità esiste solo tra gli Studi (3) e (5) escludendo

**Tabella V. A) Sensibilità e specificità al punto ottimale di cut-off; B e C) Test  $\chi^2$  per proporzioni non indipendenti: B) relativamente a ciascun marcatore; C) per la differenza tra i marcatori.**

A) – Valori osservati		Metodo di riferimento			Metodo di riferimento				
		P	N	T	P	N	T		
(2)	Cistatina	P	60	6	66	Creatinina	44	10	54
		N	24	116	140		40	112	152
		T	84	122	206		84	122	206
(3)	Cistatina	P	17	1	18	Creatinina	12	1	13
		N	7	27	34		12	27	39
		T	24	28	52		24	28	52
(4)	Cistatina	P	15	2	17	Creatinina	9	1	10
		N	2	12	14		8	13	21
		T	17	14	31		17	14	31
B) – Test $\chi^2$ :									
Cistatina	(2)	9,6; p<0,01							
	(3)	7; p<0,01							
	(4)	dimensioni campionarie non sufficienti							
Creatinina	(2)	16,82; p<0,001							
	(3)	12; p<0,001							
	(4)	8; p<0,01							
C) – Differenze ( $\chi^2$ cistatina - $\chi^2$ creatinina)									
	(2)	7,2; p<0,01							
	(3)	5; p<0,05							

cioè lo Studio (2). La correlazione media con il metodo di riferimento per Ci è dell'80%, per Cr è del 74% (con esclusione dello Studio eterogeneo).

## Discussione e conclusioni

Il diagramma in Fig. 2 mostra una dipendenza diretta della qualità degli Studi rispetto all'anno di pubblicazione, alla metodica utilizzata e al tipo di procedura.

La cistatina mostra di essere un marcatore di GFR significativamente più sensibile e specifico della creatinina. Anche la sua accuratezza appare soddisfacente. Inoltre la letteratura è concorde su tali risultati.

La precisione entro serie analitiche migliora sensibilmente con l'uso del metodo PETIA in automazione. Relativamente alla precisione fra serie, essa raggiunge in ogni caso valori soddisfacenti (< 5%). La sua eterogeneità tra Studi potrebbe essere la conseguenza

dell'uso a tutt'oggi di anticorpi non monoclonali.

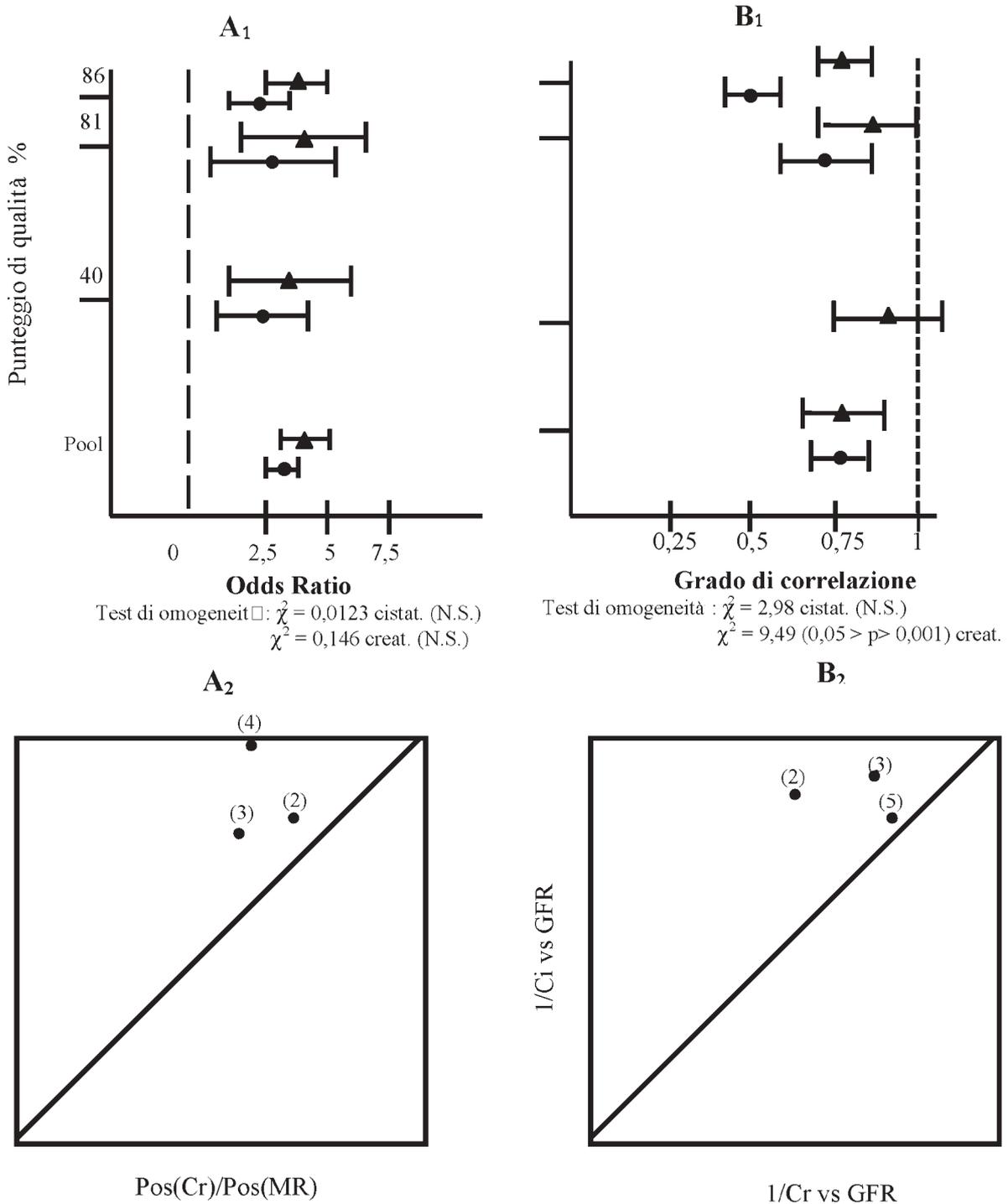
Come suggerisce Newman (2), in futuro sarebbe interessante verificare se i valori medi siano significativamente correlati con tutte le età ed i tipi di patologia renale.

## Bibliografia

1. Simonsen O, Grubb A, Thysell H. The blood serum concentration of cystatin C (y- trace) as a measure of the glomerular filtration rate. Scand J Clin Lab Invest 1985; 45: 97 - 101.
2. Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG, Wilkie M, White T, Grubb AO et al. Serum cystatin C measured by automated immuno assay; a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. Kidney Intern 1995; 47: 312 - 8.
3. Andersen JK, Schmidt C, Nordin G, Andersson B, Nisson-Ehle P, Lindstrom V et al. Serum cystatin C, determined by a rapid, automated particle-enhanced turbidimetric method, is a better marker than serum creatinine for glomerular filtration rate. Clin Chem

**Fig. 1 – Odds Ratio [1] e correlazione con il metodo di riferimento (MR)**

In A<sub>1</sub> e B<sub>1</sub> è rappresentato: in ordinata il valore percentuale del punteggio di qualità degli studi; in ascissa: in A<sub>1</sub> il logaritmo naturale dell'O. R. [1], in B<sub>1</sub> il coefficiente di correlazione con il metodo di riferimento (con i relativi limiti di confidenza).  
 In A<sub>2</sub> e B<sub>2</sub> sono rappresentati, in diagrammi di L'Abbè: [Pos-sitivi (cistatina)/Positivi MR] vs. [Positivi (creatinina)/Positivi (MR)] e rispettivamente [(1/cistatina vs. G.F.R.) vs. (1/creatinina vs. G.F.R.)].



Legenda:

- ▲ = media cistatina
- = media creatinina
- Ci = cistatina
- Cr = creatinina
- G.F.R. = glomerular filtration rate

